



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA – IQB



MARIA LAIS DE SOUZA DOS SANTOS

**SCREENING FITOQUÍMICO E POTENCIAL HEMAGLUTINANTE DO  
FRUTOE SEMENTE DO OITIZEIRO (*Licania tomentosa*) .**

MARIA LAIS DE SOUZA DOS SANTOS

**SCREENING FITOQUÍMICO E POTENCIAL HEMAGLUTINANTE DO FRUTO E  
SEMENTE DO OITIZEIRO (*Licania tomentosa*).**

Monografia apresentada como  
requisito parcial para obtenção do  
grau de licenciada em Química do  
Instituto de Química e  
Biotecnologia da Universidade  
Federal de Alagoas.  
Orientador(a): Prof. Dr. Francis  
Soares Gomes

## FOLHA DE APROVAÇÃO

MARIA LAIS DE SOUZA DOS SANTOS

SCREENING FITOQUÍMICO E POTENCIAL HEMAGLUTINANTE DO FRUTO E  
SEMENTE DO OITIZEIRO (*Licania tomentosa*).

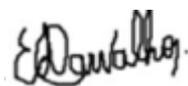
Trabalho de conclusão de curso  
submetido ao corpo docente do Instituto  
de Química e Biotecnologia da  
Universidade Federal de Alagoas e  
aprovado em 11 de novembro de 2020.



---

(Prof. Dr. Francis Soares Gomes – IQB/UFAL)  
Orientador

Banca Examinadora:



---

(Profª. Dra. Edma Carvalho de Miranda – IQB/UFAL)



---

(Stella Freitas de Queiroz – IQB/UFAL)

## RESUMO

Muitas plantas tropicais têm atividades biológicas promissoras, com potenciais aplicações terapêuticas. A família Chrysobalanaceae é bastante conhecida pela vasta utilização de suas espécies na medicina popular, com ênfase em suas atividades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana já descritas. Com a finalidade de explorar e expandir o potencial biotecnológico de espécies tropicais, este trabalho tem por objetivo o estudo fitoquímico e a identificação da presença de lectina no fruto e na semente da espécie *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae), conhecida popularmente como oitizeiro. Para este estudo foram utilizados o fruto (casca e polpa) e a semente, dos quais foram obtidos os extratos brutos em tampão Tris HCl 50mM pH 8.0, a partir do qual se obteve a fração proteica, oriunda do fracionamento salino com sulfato de amônio. Com o extrato aquoso e a fração proteica, foram realizadas a análise fitoquímica, a dosagem de proteínas e atividade hemaglutinante. Com base nisso, foi possível observar que o extrato bruto da semente teve maior atividade hemaglutinante (HA 1024) frente aos demais extratos, e que somente sofreu alteração em temperatura acima de 80°C. O extrato da semente também apresentou a maior concentração de proteínas das amostras estudadas e a maior diversidade de metabólitos secundários (taninos pirogálicos, leucoantocianidinas, triterpenóides, saponinas e flavonóides). Todos os tecidos avaliados mostraram a presença de atividade hemaglutinante e conteúdo proteico, destacando-se a semente do oiti. Conclui-se que o extrato aquoso de *L. tomentosa* apresenta atividade hemaglutinante e resistentência ao aquecimento, que a torna um interessante objeto de estudo para pesquisas relacionadas a lectinas e que o fruto e a semente do oiti possuem uma grande variedade de compostos secundários com diversos potenciais biotecnológicos.

**Palavras-chaves:** Extrato aquoso. Lectina. Metabólitos secundários.

## ABSTRACT

Many tropical plants have promising biological activities, with potential therapeutic applications. The Chrysobalanaceae family is well known for the wide use of its species in traditional medicine, with an emphasis on its antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities already described. In order to explore and expand the biotechnological potential of tropical species, this work aims at the phytochemical study and the identification of the presence of lectin in the fruit and seed of the species *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae), popularly known as oitizeiros. For this study, the fruit (peel and pulp) and the seed were used, from which the crude extracts were obtained in buffer Tris HCl 50mM pH 8.0, from which the protein fraction was obtained, derived from the sulfate saline fractionation with ammonium sulfate. Phytochemical analysis, protein dosing and hemagglutinating activity were performed in the aqueous extract and the protein fraction, based on this, it was possible to observe that the crude extract of the seed had greater hemagglutinating activity (HA 1024) compared to the other extracts and it did not suffer alteration even under different temperature conditions. The seed extract also showed the highest concentration of proteins in the studied samples and also showed a greater diversity of secondary metabolites. All evaluated tissues showed the presence of hemagglutinating activity and protein content, especially the oiti seed. It is concluded that the aqueous extract of *L. tomentosa* has hemagglutinating activity and resistance to heating, which makes it an interesting object of study for research related to lectins and that the fruit and seed of oiti have a wide variety of secondary compounds with different biotechnological potentials.

**Key words:** Aqueous extract. Lectin. Secondary metabolites.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1</b> - Características das folhas alternas (A), das flores (B) e do fruto drupáceo da família Chrysobalanaceae.....	14
<b>FIGURA 2</b> - Copa da árvore de <i>Licania</i> com alguns frutos.....	18
<b>FIGURA 3</b> - Frutos de oiti quando maduros.....	19
<b>FIGURA 4</b> - Representação ilustrativa da estrutura de lectinas quanto ao domínio de ligação a carboidrato.....	24
<b>FIGURA 5</b> - Esquema ilustrativo de ensaio de hemaglutinação aglutinação.....	27

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 01</b> - Metabólicos Secundários do Gênero <i>Licania</i> .....	16
<b>TABELA 02</b> - Atividades Biológicas e Aplicações das Lectinas em Diferentes Áreas.....	25
<b>TABELA 03</b> - Potencial Hemaglutinante das Frações dos Extratos Brutos das Partes do Fruto Oiti.....	32
<b>TABELA 04</b> - Atividade Hemaglutinante do Extrato Bruto da Semente do Fruto em Diferentes Temperaturas.....	33
<b>TABELA 05</b> - Quantificação Proteica dos Extratos Brutos.....	34
<b>TABELA 6</b> - Screen Fitoquímico das Classes de Metabólitos Secundários em Extratos Etanólicos da Casca, Polpa e Semente do Fruto Oiti.....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AH</b>	Atividade Hemaglutinante
<b>mg</b>	Miligrama
<b>mL</b>	Mililitros
<b>µL</b>	Microlitros

## SUMÁRIO

1.0	INTRODUÇÃO .....	10
2.0	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	12
2.1	Uso de Frutos na Medicina Popular .....	12
2.2	A família Chrysobalanaceae.....	13
2.2.1	O Gênero Licania.....	15
2.2.2	Licania tomentosa (Benth) Fritsch.....	17
2.3	Metabólitos Primários e Secundários de Plantas .....	19
2.4	Lectinas .....	21
2.4.1	Classificação.....	22
2.4.2	Potencial Biotecnológico .....	25
2.5	Screen Fitoquímico .....	26
2.6	Teste Hemaglutinante .....	26
3.0	OBJETIVOS.....	28
3.1	Geral.....	28
3.2	Específicos: .....	28
4.0	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1	Coleta e Identificação do Material Biológico .....	29
4.2	Preparo do Extrato Vegetal .....	29
4.3	Fracionamento com Sulfato de Amônio .....	29
4.4	Dosagem de Proteína .....	29
4.5	Ensaio de Hemaglutinação .....	30
4.6	Análise Fitoquímica.....	30
4.6.1	Testes Para Fenóis, Taninos Pirogálicos e Taninos Flobatênicos .....	30
4.6.2	Testes Para Antocianina e Antocianidina, Flavonas, Flavonóis e Xantonas, Chalconas e Auronas, Flavononóis .....	31
4.6.3	Teste Para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas .....	31
4.6.4	Testes Para Flavonóis, Flavanonas, Flavononóis e Xantonas .....	31

4.6.5	Teste Para Esteroides e Triterpenoides .....	31
4.6.6	Teste Para Saponinas .....	31
5.0	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	32
5.1	Fracionamento Com Sulfato de Amônio e Teste Hemaglutinante .....	32
6	CONCLUSÃO.....	38
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

## 1.0 INTRODUÇÃO

O Brasil é classificado geograficamente como um país continental, uma vez que apresenta uma grande extensão de terras. Além disso, apresenta uma biodiversidade muito característica, propiciando a ocupação de um lugar de destaque em muitos segmentos econômicos (SILVA, 2020).

Em alguns países, a disponibilidade de terra não pode ser explorada com tanto desenvolvimento biotecnológico, principalmente aqueles cuja expansão territorial apresenta perímetros anecúmenos; seja pelo terreno árido, salinidade do solo, ou cobertura por gelo. Entretanto, o posicionamento geográfico do Brasil, bem como o clima tropical, faz com que a diversidade e produtividade de espécies vegetais sejam de grande abundância.

A flora brasileira é também marcada pela sua contribuição na medicina popular, devido a sua rica biodiversidade que inclui inúmeras plantas com potencial farmacológico, cuja prática vem sendo passada de geração em geração (MENEGUELLI et al., 2017). Em algumas regiões, o seu uso sofre o reflexo da falta de assistência médica hospitalar por parte do estado. Destarte, em outras localidades, a sua aplicação apresenta uma conotação cultural.

A produção de princípios ativos de vegetais e animais está relacionada ao seu mecanismo de defesa contra agentes externos. Essas substâncias são normalmente classificadas em metabólitos primários e secundários a depender do seu mecanismo de ação (Paiva et al., 2010).

Através do avanço científico, ficou claro que a presença de determinados princípios ativos está diretamente associada à família das espécies vegetais, e no aspecto molecular, devido a composição química de alguns metabólitos. Charverri *et al.* (2016) afirmaram em seus estudos que o extrato do fruto *Harconia Speciosa Gomes*, popularmente conhecida como mangabeira, sugeriu a presença de moléculas bioativas como responsáveis pela atividade anti-inflamatória do fruto.

Tomando como embasamento a biodiversidade da flora em nosso país, nossas florestas têm se portado com grande potencial na exploração e produção de extratos para fins de tratamentos terapêuticos, no controle e / ou prevenção de doenças crônicas. Isso, por sua vez, pode estar associado à presença de polifenóis presentes em frutas e vegetais, que contribuem no referido efeito antioxidante do vegetal.

A família Chrysobalanaceae é bastante conhecida pela vasta utilização de suas espécies na medicina popular. Atualmente, a família abrange cerca de 17 gêneros e 525 espécies, espalhadas pelas regiões tropical e subtropical. Suas espécies têm boas avaliações em relação

às suas atividades biológicas e farmacológicas, além de apresentarem efeitos significativos sobre suas ações antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana (FEITOSA et al., 2012).

Sob o aspecto mais detalhado, tem-se que entre as espécies que compõem esta família, destaca-se por meio deste trabalho a espécie *Licania tomentosa*, pertencente a ordem Rosales. Sua nomenclatura popular é Oiti, Oitizeiro ou Oiti da praia, podendo atingir até 24 metros de altura. Tal espécie se desenvolve com facilidade em clima ameno e quente como os da região Norte e Nordeste, sendo bastante utilizados na arborização urbana, por ter uma copa bem formada e cheia.

Em face aos relatos supracitados, e com a finalidade de explorar o potencial biotecnológico dessa espécie amplamente difundida no território brasileiro, objetivamos por meio deste trabalho investigar a composição fitoquímica da espécie *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch, assim como efetuar um estudo qualitativo da presença de lectinas no fruto e sementes deste vegetal.

## 2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Uso de Frutos na Medicina Popular

Muitas plantas tropicais têm atividades biológicas interessantes com potenciais aplicações terapêuticas (CHAVERRI, et al., 2019). A utilização de folhas, cascas e raízes de plantas no tratamento de enfermidades na medicina popular, em alguns casos por falta de acesso ao sistema único de saúde (SUS) outras por ser um costume passado de geração em geração. E essas informações tem sido bastante visadas pela ciência, com o intuito de elucidar as substâncias responsáveis pelo tratamento e sua ação, além do que a flora brasileira é muito vasta e ainda temos muito o que descobrir, não só das folhas da planta, mas também de seus frutos e sementes.

CHAVERRI, et al., (2019) citou as seguintes propriedades medicinais de xantonas isoladas de fontes diferentes de *Garcinia mangostana Linn*: atividades antioxidante, antitumoral, antialérgica, antiinflamatória, antibacteriana e antiviral. a casca dessa árvore conhecida popularmente como a rainha das frutas, é utilizada como um medicamento tradicional para o tratamento de dor abdominal, diarreia, disenteria, ferida infectada, supuração e úlcera crônica pelos povos de alguns países do sudeste asiático.

TORRES RÊGO, et al., (2016) ao analisar o extrato do fruto *Harconia Speciosa Gomes*, popularmente conhecida como mangabeira em modelos animais que sugeriu a presença de moléculas bioativas como responsáveis pela atividade anti-inflamatória do fruto. Concluindo que é interessante a utilização terapêutica desse extrato, de onde será possível a fabricação de um fármaco.

Levando em consideração a diversidade da flora brasileira, nossas florestas têm grande potencial na exploração e produção de extratos para fins de tratamentos terapêuticos no controle e / ou prevenção de doenças crônicas. Isso se dá devido aos polifenóis presentes em frutas e vegetais, que contribuem no efeito antioxidante de muitos frutos. Frente a isso foi feito um estudo com *Psidium cattleianum Sabine*, mais conhecida como goiaba brasileira, utilizada na medicina popular no tratamento de diarreia e cólicas intestinais; *Butia eriospatha*, mais conhecida como butiá; e *Eugenia uniflora L.*, onde se utilizam da infusão de suas folhas no tratamento de febre, reumatismo, doenças estomacais e digestivas, hipertensão, febre amarela e gota; seu fruto é chamado de pitanga que apresenta atividade antioxidante por inibir a peroxidação lipídica e remover radicais livres. Vários derivados de compostos fenólicos foram encontrados em frutas, como do ácido gálico, da quercetina, quercitrina, isoquercitrina e da

cianidina, que estão envolvidos na capacidade antioxidante desses frutos (DENARDIN, et al., 2015).

Em estudos realizados com as frutas da *Punica granatum L*, popularmente conhecida como romã, foi isolada e caracterizada a lectina da succulenta sarcotesta de *P. granatum*, além de avaliar sua ação antibacteriana frente a *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens* e *Streptococcus mutans*, onde apresentou ação satisfatória e inibiu o crescimento e desenvolvimento de *Aeromonas sp.*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Salmonella enterica* serovar. Enteritidis, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus* e reduziu a adesão e invasão de *Aeromonas sp.*, *S. aureus*, *S. marcescens* e *S. enterica*, expondo assim o grande potencial biotecnológico da lectina PgTeL presente na espécie e sua ação biológica frente a bactérias (SILVA, et al., 2016). Utilizando a lectina PgTeL, DA SILVA, et al., (2019) concluiu que a lectina causou alterações nas estruturas das bactérias, apresentou atividade antibacteriana contra cinco isolados de *Escherichia coli* capazes de produzir  $\beta$ -lactamases, além de exibir atividade antibiofilme

SHIVAMADHU, et al. (2017) avaliou a lectina identificada a partir da seiva do fruto de *Praecitrullus fistulosus*, denominado *PfLP*, onde constataram a potente atividade aglutinante contra eritrócitos de coelho e seus efeitos anticâncer onde aumentou o tempo de sobrevivência de camundongos com Carcinoma de ascite de Ehrlich e eliminar a angiogênese do tumor por meio da modulação da secreção de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e metaloproteinase de matriz (MMP) no fluido ascítico. Além de não exibir toxicidade para camundongos normais.

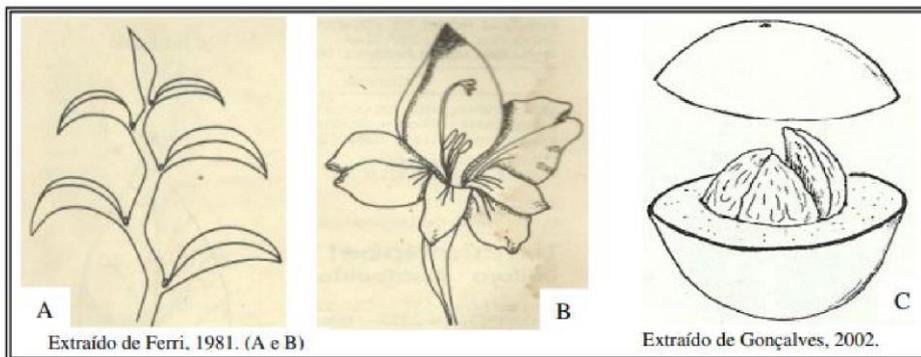
## 2.2 A família Chrysobalanaceae

A família Chrysobalanaceae é uma família bastante conhecida pela vasta utilização de suas espécies na medicina popular. Atualmente, a família abrange cerca de 17 gêneros e 525 espécies, espalhadas pelas regiões tropical e subtropical. Suas espécies têm boas avaliações em relação às suas atividades biológicas e farmacológicas, além de apresentarem efeitos significativos sobre suas ações antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana (FEITOSA et al., 2012).

A família *Chrysobalanaceae* foi descrita pela primeira vez pelo botânico Robert Brown em seu livro intitulado “Um século de ciência na América”, nas proximidades do Congo, no ano de 1816 (SALISBURY, 1818). As espécies de *Chrysobalanaceae* possuem folhas inteiras, duras, alternadas e com estípulas. Pequenas flores geralmente branco-esverdeado, cíclico,

zigomórfico, diclamidas, com um receptáculo desenvolvido, sem sépalas e pétalas, pentâmeros gerais e o andrócio consiste em dois estames, ovário súpero medial, bi para tricarpelar, unilocular, geralmente com apenas um óvulo e frutos geralmente drupáceos. No cerrado brasileiro e nas florestas amazônicas, podem ser encontradas árvores das espécies do gênero *Licania* (JOLY, 1998).

**Figura 1-** Características das Folhas Alternas (A), das Flores (B) e do Fruto Drupáceo © da Família *Chrysobalanaceae*



**Fonte:** BEZERRA, 2011.

No nordeste do Brasil, as espécies de *Licania* têm suas folhas usadas para tratar diabetes (AGRA, et al. 2007), dores de estômago (ALBUQUERQUE, et al. 2007), diarreia e disenteria (CARTAXO, et al. 2010). A casca do caule de *Parinari excelsa*, amplamente difundida no Senegal (NDIAYE, et al. 2008), também é usada no tratamento da diabetes; e também folhas de *Hirtella racemosa*, comumente conhecidas no norte do Brasil como "ajirú-do-mato" (COELHO-FERREIRA, 2009).

As espécies de *Chrysobalanaceae* têm indicações na medicina tradicional e tratamentos para várias doenças como malária, epilepsia, diarreia, doenças venéreas e diabetes. Porém, existem poucos estudos, tanto fitoquímicos quanto farmacológicos, e, na maioria deles, são investigados majoritariamente flavonóides e terpenóides (MIRANDA, et al. 2002). Estudos fitoquímicos iniciais com esta família ocorreram na década de 60 e descreveram a presença de agliconas flavonóides em espécies de *Chrysobalanus icaco* e *Licania rígida*, onde foi identificada a miricetina (CHAFFAUD & EMBERGER, 1960).

O gênero *Licania* é atualmente o mais estudado. O extrato de *L. tomentosa* tem a capacidade de inibir o vírus do herpes simplex tipo I resistente ao aciclovir (ACVr-HSV1) e interferir no processo inicial de infecção em concentrações não citotóxicas (MIRANDA, et al. 2002). Avaliações fitoquímicas com o gênero *Licania* mostraram semelhanças com outras

Chrysobalanaceae, resultando no isolamento e caracterização majoritários de duas classes de compostos: flavonóides e triterpenos (CASTILHO, et al. 2005).

### 2.2.1 O Gênero *Licania*

O Gênero *Licania* é composto por 250 espécies. Dentre as espécies estudadas, foram isolados e identificados cerca de 87 metabólitos secundários, dentre eles estão as classes de: terpenos, esteroides, flavonoides e saponinas (BEZERRA, 2011).

Com a evidência da presença de terpenos e flavonoides no gênero, os mesmos têm sido utilizados como marcadores quimiotaxonômicos da família Chrysobalanaceae. Sendo os flavonóides descritos como responsáveis pelas ações farmacológicas tais como: antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória, antiviral, anti-úlceras, estrogênica e tripanocida. E os terpenos são responsáveis pela ação antitumoral, citotóxica, dentre outras (MORAIS, 2015).

Além desses metabólicos, algumas espécies como *Licania microphylla* apresentaram ação farmacológica cicatrizante e anti-inflamatória, e a *Licania rígida* expôs atividade antioxidante (BEZERRA, 2011)

Um levantamento bibliográfico feito por BEZERRA (2011) sobre um estudo químico e biológico de espécies do gênero *Licania* retrata uma relação de 87 metabólitos secundários e suas respectivas classes, isolados do gênero (tabela 1), sendo possível notar a riqueza de compostos e suas respectivas classes que já foram isolados e identificados.

Outra fruta da família Chrysobalanaceae é o Guajuru (*Chrysobalanus icaco* L.), que também é rico em polifenóis exibiu atividade antioxidante e também apresenta efeitos antidiabéticos em ratos, além de atividades antiproliferativa e antiinflamatória, demonstrando o potencial das frutas desta família como fonte de compostos bioativos, que abrangem o fruto Oiti (TEIXEIRA, et al. 2019)

**Tabela 01: Metabólicos Secundários do Gênero *Licania***

Classes	Metabólitos secundários
Terpenos	<p>Ác. 3<math>\beta</math>- <i>O</i>-<i>trans</i>-<i>p</i>-cumaroil alfitólico; Licanolídeo; Ác. 3<math>\beta</math>- <i>O</i>-<i>trans</i>-<i>p</i>-cumaroil maslínico; Lupenol; Ác. 3<math>\beta</math>- <i>O</i>-<i>cis</i>-<i>p</i>-cumaroil maslínico; Ác. Betulínico; Ác. 3<math>\beta</math>- <i>O</i>-<i>cis</i>-<i>p</i>-cumaroil alfitólico; Ác. Ursólico; Ác. 3<math>\beta</math>- <i>O</i>-<i>trans</i>-<i>p</i>-cumaroil 2<math>\alpha</math>-hidroxi-ursa-12-em-28-óico; Ác. Oleanólico; Ác. 3<math>\beta</math>- <i>O</i>-<i>cis</i>-<i>p</i>-cumaroil 2<math>\alpha</math>-hidroxi-ursa-12-em-28-óico; Ác. Tormêntico; Ác. 3<math>\alpha</math>-24-Dihidroxi-olean-12-em-28-óico; Ác. Maslínico; Ác. 3<math>\beta</math>,6<math>\beta</math>,24-dihidroxi-olean-12-em-28-óico; Ác. Alfitólico; Ác. 3<math>\alpha</math>-hidroxi-ursa-12-en-28-óico; Ác. 2<math>\alpha</math>-hidroxi ursólico; Ác. 3<math>\alpha</math>-24-dihidroxi-ursa-12-em-28-óico; Arjunetina; Ác. 3<math>\alpha</math>,19<math>\alpha</math>,24-trihidroxiursa-12-en-28-óico; Olean-12-em-2<math>\alpha</math>,3<math>\beta</math>-diol; Ác. 3<math>\beta</math>,6<math>\beta</math>,19<math>\alpha</math>-trihidroxiursa-12-en-28-óico; Cucurbitacina; Ác. 11<math>\alpha</math>-hidroxi-betulínico; Intrapetacina A; Ác. 6<math>\beta</math>-hidroxi-betulínico; Intrapetacina B; Ác. 3-(3', 4'-di-hidroxibenzoil), 2<math>\alpha</math>,3<math>\beta</math>-di-hidroxilup-12-en-28-óico; Ác. Oleanólico-3-arabnosídeo</p>
Saponinas	<p>Ác. 3-<i>O</i>-[6'-<i>O</i>-4-hidroxibenzoil]-<math>\beta</math>-D-galactopiranosil-ursa-12-em-28-óico; Ác. 3<math>\beta</math>-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopiranosil-24-hidroxiursa-12-em-28-óico; Ác. 3<math>\beta</math>-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopiranosil-19<math>\alpha</math>,24-hidroxiursa-12-em-28-óico</p>
Esteróides	$\beta$ -sitosterol; Estigmasterol; $\beta$ -sitosterol glicolisado
Flavonóides	<p>Miricetina-3-(2''-xilosil) raminosídeo; Canferol-3-raminosídeo; Ác. 4'-metoxi-5,7-dihidroxi-flavona-6-sulfona; Catequina; 3-(2''-xilosil) raminosídeo canferol; Epicatequina; Miricetina-3',4'-dimetoxi-3-<i>O</i>-<math>\beta</math>-glicopiranosídeo; Hiperina; Miricetina-3',5'-dimetoxi-3-glicosídeo A; Hipoleatina; Miricetina-3',5'-dimetoxi-3-raminosídeo; Canferol; Miricetina-3'-metoxi-3-galactosídeo; Canferol-3-arabinosídeo;</p>

	<p>Miricetina-3'-metoxi-3-glicosídeo; Canfenol-3-rutinosídeo;          Miricetina-3'-metoxi-3-rutinosídeo; 8-hidroxi-naringenina;          Miricetina-3-galactosídeo; 8-hidroxi-4'-metoxi-naringenina;          Miricetina-3-glicosídeo; Quercetina;          Miricetina-3-O- <math>\alpha</math>-L-(2''-O -<math>\alpha</math>-L-raminopiranosil) raminosídeo;          Miricetina; Miricetina-3-raminosídeo; Miricetina-4'-O -raminosídeo;          Miricetina-3-rutinosídeo; Miricetina-3,4'-O -arabinosídeo;          Miricetina-3-O- <math>\alpha</math>-L-raminopiranosil) raminosídeo;          Miricetina-3,4'diraminosídeo; Miricetina-4'-metoxi-3-galactosídeo;          Quercetina-3-O- rutinosídeo;          Miricetina-7-metoxi-3,4'-diraminosídeo; Miricetina-3-galactosídeo;          Miricetina-4'-metoxi-3-glicosídeo; Quercetina-3-O- rutinosídeo;          Miricetina-4'-metoxi-3-raminosídeo; Quercetina-3-arabinosídeo;          Quercetina-3-(2''-xilossil) raminosídeo; Quercetina-3-raminosídeo;          Taxifolin-3-O-<math>\alpha</math>-raminosídeo</p>
Cronomas	<p>5,7-dihidroxi-2-dotricontanil cromana;          5,7-dihidroxi-2-untricontanil cromana; 5,7-dihidroxi-2-tricontanil cromana;          5,5-dihidroxi-2-noneicosanil cromana;          5,7-dihidroxi-6-cloro-2-dotricontanil cromana;          5,7-dihidroxi-6-cloro-2-untricontanil cromana;          5,7-dihidroxi-6-cloro-2-noneicosanil cromana;          5,7-dihidroxi-6,8-dicloro-2-untricontanil cromana</p>

Fonte: adaptado de BEZERRA (2011)

### 2.2.2 *Licania tomentosa* (Benth) Fritsch

*Licania tomentosa* é espécie da família *Chrysobalanaceae*, da ordem Rosales, e é conhecida como oiti, oitizeiro ou oiti da praia, podendo atingir cerca de 24 metros de altura. Esta árvore se desenvolve com facilidade em clima ameno e quente como os das regiões Norte e Nordeste. Muito utilizada na arborização urbana por ter uma copa bem formada e cheia, gerando sombra (Figura 2). Suas flores, de onde brotam seus frutos, são pequenas (NETO, et al. 2013).

Seu tronco apresenta casca áspera de cor acinzentada ou marrom claro, podendo atingir o diâmetro de 50cm. A altura de 3 a 4 metros o seu tronco se bifurca, formando galhos vigorosos e ascendentes.

**Figura 2-**Copa da Árvore com Alguns Frutos



**Fonte:** <https://appverde.wordpress.com/2015/09/17/oiti-licania-tomentosa/>, acesso em: 03/02/2020.

O seu fruto, conhecido como oiti, é uma drupa elipsoide ou fusiforme, com casca amarelo esverdeado ou totalmente amarela quando madura, possui odor forte e característico (Figura 3). Sua semente volumosa é recoberta por sua polpa que tem sabor doce e adstringente; O fruto é bastante doce, com alto teor de umidade, com baixo teor de gordura, alto teor de fibras, pectinas e ferro (SOUZA, et al. 2010).

**Figura 3**-Frutos de Oiti Quando Maduros. No Detalhe (esquerda em baixo), o Fruto Cortado ao Meio Mostrando uma Fina Camada de Endocarpo que Envolve a Semente, a Polpa Amarela e Fibrosa



**Fonte:** <http://www.aplantadavez.com.br/2015/01/oiti-licania-tomentosa-benth-fritsch.html>, acesso em 03/02/2020.

Na medicina popular a *Licania tomentosa* é muito utilizada como anti-inflamatório, no tratamento de diabetes e distúrbios do trato intestinal, fortalecendo o valor medicinal desta espécie e a busca por moléculas responsáveis por tais atividades e possíveis meios de utilização (FEITOSA, XAVIER e RANDAU, 2012).

Segundo o artigo “Constituintes químicos de *Licania tomentosa*”, de CASTILHO e KAPLAN (2008), o metabolismo desta espécie é representado em destaque por flavonoides, cronomas e triterpenóides. O trabalho elucidou através do fracionamento do extrato metanólico e frações do fruto o isolamento e a purificação de ácido betulínico, triterpeno licanolídeo, dentre outros. O estudo não cita, no entanto, os componentes encontrados na semente do fruto, pois a metodologia relata que os frutos foram separados de suas sementes, fragmentados e macerados a frio, com n-hexano e metanol.

### 2.3 Metabólitos Primários e Secundários de Plantas

A produção de princípios ativos de vegetais e animais de interesse biotecnológico está relacionada ao seu mecanismo de defesa contra agentes externos. Essas substâncias são

normalmente classificadas em metabólitos primários e secundários a depender da sua vida de síntese e de seu mecanismo de ação (PAIVA et al., 2010).

Para compreender a função dos metabólitos, é necessário definir metabolismo que é o conjunto de reações que ocorrem nas células. Os compostos químicos que são formados, degradados e ou transformados, são denominados metabólitos que podem ser divididos em primários e secundários (TAIZ & ZEIGER, 2017).

O metabolismo primário desempenha as funções essenciais a planta, como a respiração, a fotossíntese e o transporte de substâncias. Já o secundário é desenvolvido a partir dos produtos do metabolismo primário, e são considerados não essenciais para os processos metabólicos da planta (SANTIN, 2017).

A maior incidência dos metabólitos secundários ocorre em plantas, fungos e outros microrganismos. A grande gama dessas substâncias tem sua síntese realizada a partir de quatro vias metabólicas principais: via do acetato-malonato (ácido malônico), via do acetato-mevaloato (ácido mevalônico), via do metileritritol fosfato (MEP) e a via do ácido chiquímico, todas advindas do metabolismo primário (DEWICK, 2009).

Podemos dividir os metabólitos secundários em três grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcaloides. (TAIZ & ZEIGER, 2017)

Os compostos fenólicos são derivados dos ácidos chiquímico e mevalônico, como exemplo temos os flavonóides, taninos e ligninas. São caracterizados por possuírem pelo menos um anel aromático, no qual pelo menos um hidrogênio é substituído por uma hidroxila. A sua diversidade estrutural se deve à grande variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis. (TAIZ & ZEIGER, 2017; PERES, 2004; BABY, 2015)

Os terpenos são produzidos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do MEP (no cloroplasto), como exemplo temos óleos essenciais, saponinas, carotenóides e a maioria dos fitorreguladores. São normalmente encontrados em diversas partes da planta. Na natureza podem-se encontrar flavonóides em diversas formas estruturais, quimicamente a maioria dos flavonoides são moléculas com quinze átomos de carbono arranjados em três anéis, sendo dois anéis fenólicos substituídos e um heterocíclico oxigenado central, acoplado a um dos anéis fenólicos (TAIZ & ZEIGER, 2017; PERES, 2004; BABY, 2015).

Os terpenos possuem várias propriedades farmacológicas comprovadas em humanos, como capacidade antioxidativa, ação antialérgica, atividade anti-inflamatória, antitumoral, anti hepatotóxica, antiulcerogênica, antiviral, antimicrobiana e antiplaquetária. Porém sua

capacidade antioxidante é a mais difundida, pois são compostos doadores de elétrons, e dispõem de estruturas conjugadas ricas em hidroxilas, portando assim um grande potencial de ação sobre agentes oxidantes. E já foi comprovada sua eficácia no combate do envelhecimento precoce, onde inibe a ação da enzima xantina oxidase, que oxida os tecidos (AGRAWAL, 2011; BHATTACHARJEE, 2013; FLAMBÓ, 2013; XIE, 2015; DÔRES, 2007; MACHADO *et al.*, 2008).

Os alcaloides são provenientes dos aminoácidos aromáticos (triptofano e tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (ornitina e lisina), como exemplo temos nicotina, cafeína e vincristina (TAIZ & ZEIGER, 2017; PERES, 2004; BABY, 2015).

## **2.4 Lectinas**

Lectinas são proteínas que ligam carboidratos ou glicoconjugados, de forma específica e reversível, tem a capacidade de reconhecer se associar por interações de Van der Waals ou pontes de hidrogênio com alta afinidade a esses compostos, em uma determinada região da molécula, que é designada de Domínio de Reconhecimento a Carboidratos pode promover, modificações na estrutura covalente do carboidrato. (LIMA *et al.*, 2018; LIS & SHARON, 1998; CAMACHO, 2007; SILVA *et al.*, 2010; KARNCHANATAT, 2012; FREIRE *et al.*, 2015).

São moléculas com diversas propriedades biológicas com grande incidência em plantas. Sharon e Lis (2004) afirmam que as lectinas desempenham papéis importantes no controle da biossíntese de glicoconjugados, imunidade inata, regulação do crescimento e apoptose das células e regulação do ciclo celular.

A presença de lectinas em uma amostra pode ser detectada a partir de ensaios de aglutinação, sendo mais comumente utilizado o de hemaglutinação, no qual é realizado através de uma diluição seriada da amostra contendo lectina e posterior incubação com eritrócitos; a rede formada entre os eritrócitos constitui o fenômeno de hemaglutinação. Os eritrócitos utilizados podem ser de humanos ou de animais (CORREIA, 2018).

Diferente dos anticorpos que possuem estruturas similares, as lectinas não são uma resposta do sistema imune e diferem entre si quanto à composição aminoacídica, requerimentos de metais, peso molecular e estrutura tridimensional (VAN DAMME *et al.*, 1998; PAIVA *et al.*, 2013).

Atualmente, sabe-se que as lectinas são amplamente distribuídas na natureza, sendo encontradas em animais, vegetais, bactérias, fungos e vírus.

Nos vegetais, as lectinas têm sido encontradas em cerne, folhas, flores, sementes, cascas, raízes e rizomas (SARTIM et al., 2017). Além disso creditado pela sua diversidade estrutural, podem ter diferentes funções. Possuem diversas atividades biológicas como atividades miogênicas, antitumorais, antimicrobianas, dentre outras (DIAS et al., 2006; PROCÓPIO et al., 2017).

O primeiro relato relacionado aos estudos das lectinas se deu em 1888, quando Stillmark descobriu um fator hemaglutinante em extratos da *Ricinus communis* (mamona), essa capacidade de aglutinar eritrócitos era devido à presença de uma proteína extraída, que foi denominada de ricina. Mas foi somente quando Hellin em 1889 observou que os extratos do feijão Jequiriti (*Abrus precatorius*) conhecida popularmente como ervilha do rosário também era capaz de aglutinar células sendo esta molécula chamada abrina, que os estudos sobre as lectinas ganharam destaque, desde então diversas lectinas foram isoladas e caracterizadas. Mas a primeira lectina pura foi obtida a partir do extrato de *Canavalia ensiformis* (Família Leguminosae), chamada concavalina A (Con A) (GABOR et al., 2004) (KENNEDY et al., 1995).

#### **2.4.1 Classificação**

VAN DAMME em 1995 relatou que as lectinas possuem pelo menos um domínio não-catalítico que se liga reversivelmente a um mono ou polissacarídeo específico, com base nessa estrutura elas podem ser divididas em merolectinas, hololectinas, quimerolectinas e superlectinas.

As lectinas podem ser classificadas de acordo com sua estrutura, especificidade de ligação ao carboidrato e domínio de reconhecimento ao carboidrato (CRD – Carbohydrate Recognition Domain) (GODULA et al., 2018).

##### **2.4.1.1 Estrutural**

###### **- Merolectinas**

As merolectinas apresentam apenas um domínio de ligação a carboidrato sendo incapaz de precipitar glicoconjugados ou aglutinar células, como exemplo temos a heveína que é uma

lectina constituída por 43 aminoácidos e é encontrada no látex seringueira (*Hevea brasiliensis*) (VAN PARIJS, et al., 1991).

- **Hololectinas**

As hololectinas apresentam dois domínios de ligação a carboidrato que podem ser idênticos ou parecidos, como são di ou multivalente são capazes de aglutinar células e/ou precipitar glicoconjugados. A maioria das lectinas purificadas pertencem a esse grupo, como exemplo temos a lectina isolada das sementes de *C. brasiliensis* (ConBr), pertencente a subtribo Diocleinae. (GRANGEIRO, T.B et al 1995).

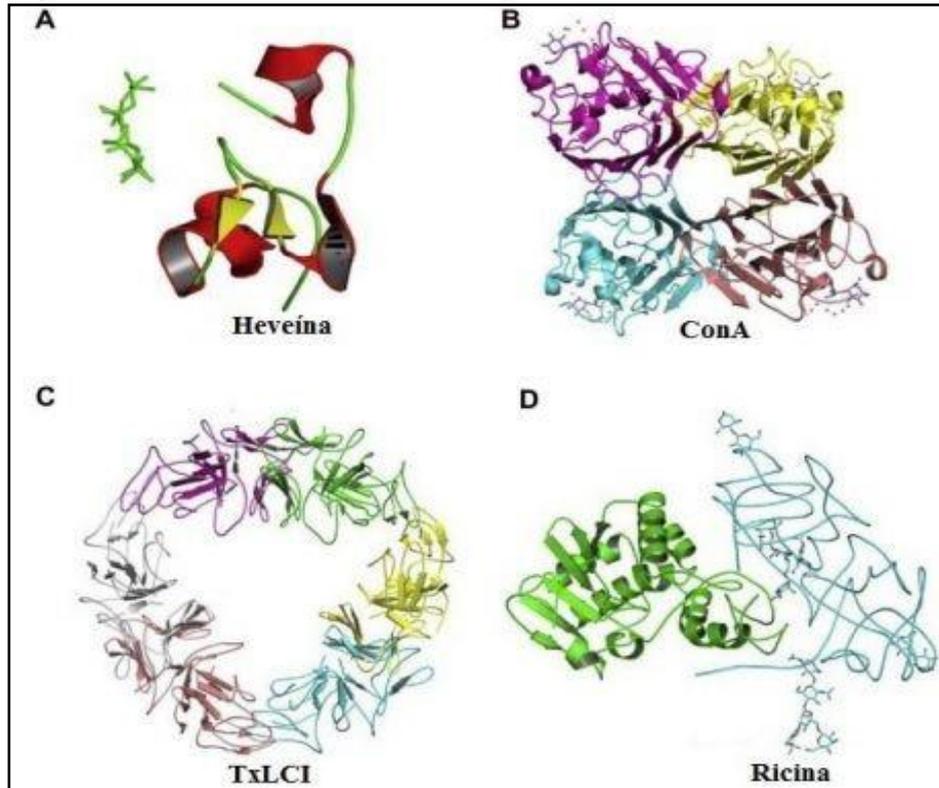
- **Quimerolectinas**

Possuem um domínio de ligação a carboidratos e um domínio possui atividade catalítica ou outra atividade biológica. Como exemplo temos as proteínas extraídas das sementes de *Parkia platycephala*, (RIPs) tipo II e a PPL2 (CAVADA et al., 2006).

- **Superlectinas**

Possuem dois domínios de ligação a carboidratos diferentes. Como exemplo temos a lectina do bulbo de tulipa que apresentam dois domínios de ligação, a manose e N-acetilgalactosamina (VAN DAMME et al., 1996).

**Figura 4.** Representação Ilustrativa da Estrutura de Lectinas Quanto ao Domínio de Ligação a Carboidrato. (A) Merolectinas; (B) Hololectinas; (C) Superlectinas; (D) Quimerolectinas



Fonte: SILVA, 2020.

#### 2.4.1.2 Especificidade de Ligação

São seis grupos: ligaduras de glicose/manose, ligaduras de galactose/N-acetilgalactosamina, ligadoras de N-acetilglicosamina, ligadoras de L-fucose, ligadoras de ácido siálico e ligadoras de glicanos complexos (PEUMANS et al., 1995; KARNCHANATAT, 2012; ITAKURA et al., 2017).

#### 2.4.1.3 CDR

A classificação CDR é atribuída em função da estrutura dos domínios que estabelecem e reconhecem a ligação ao carboidrato. Sendo assim, as lectinas de plantas são classificadas em quatro grupos: lectinas de monocotiledôneas que se ligam a carboidratos  $\alpha$ -D-manose, lectinas de domínio folhas- $\beta$ , domínio homólogo à cianovirina-N e lectinas de leguminosas, sendo este último grupo o mais estudado (VARROT et al., 2011; JOHN et al., 2013; ITAKURA et al., 2017).

### 2.4.2 Potencial Biotecnológico

As lectinas de plantas desempenham diversas funções fisiológicas, uma delas é a proteção contra agentes patogênicos externos devido a sua capacidade de aglutinar e mobilizar esses agentes. Para desempenhar esta função as lectinas estão presentes nos locais com maior potencial de invasão e tem a capacidade de se ligar a vários fungos inibindo o seu crescimento nas plantas; outra função é a capacidade de interagir com células animais, o que pode ser visto no contexto ecológico como proteção das plantas aos predadores. Quando ingeridas por insetos e herbívoros ligam-se a receptores glicosilados ao longo do trato intestinal provocando desconforto, repelindo assim o predador (efeito antinutricional) (SHARON & LIS, 2004; VANDENBORRE et al., 2011; ITAKURA et al., 2017).

**Tabela 2. Atividades Biológicas e Aplicações das Lectinas em Diferentes Áreas**

<b>Atividade / aplicação</b>	<b>Eventos envolvidos</b>
<b>Inseticida</b>	Modulação da atividade enzimática com consequente ruptura das microvilosidades, interações entre lectina e receptores glicosilados do trato digestivo dos insetos.
<b>Antibacteriana</b>	Interação com componentes da parede celular bacteriana.
<b>Antifúngica</b>	Ligação às hifas, resultando na diminuição da absorção de nutrientes e interferência no processo de germinação dos esporos.
<b>Antiviral</b>	Interferência na fase inicial do ciclo de replicação do vírus suprimindo o crescimento.

---

<b>Antitumoral</b>	Reconhecimento de células tumorais e indução de apoptose e necrose, estimulação mitogênica e ação imunomoduladora.
--------------------	--

---

<b>Biomarcador</b>	Marcadores de superfície celular.
--------------------	-----------------------------------

---

<b>Purificação e caracterização de polissacarídeos</b>	Emprego de lectinas imobilizadas em matrizes de cromatográficas para estudos de proteoglicanos, <b>e Glicoconjugados</b> glicoproteínas ou glicolípideos.
--	---

---

Fonte: SILVA, 2020

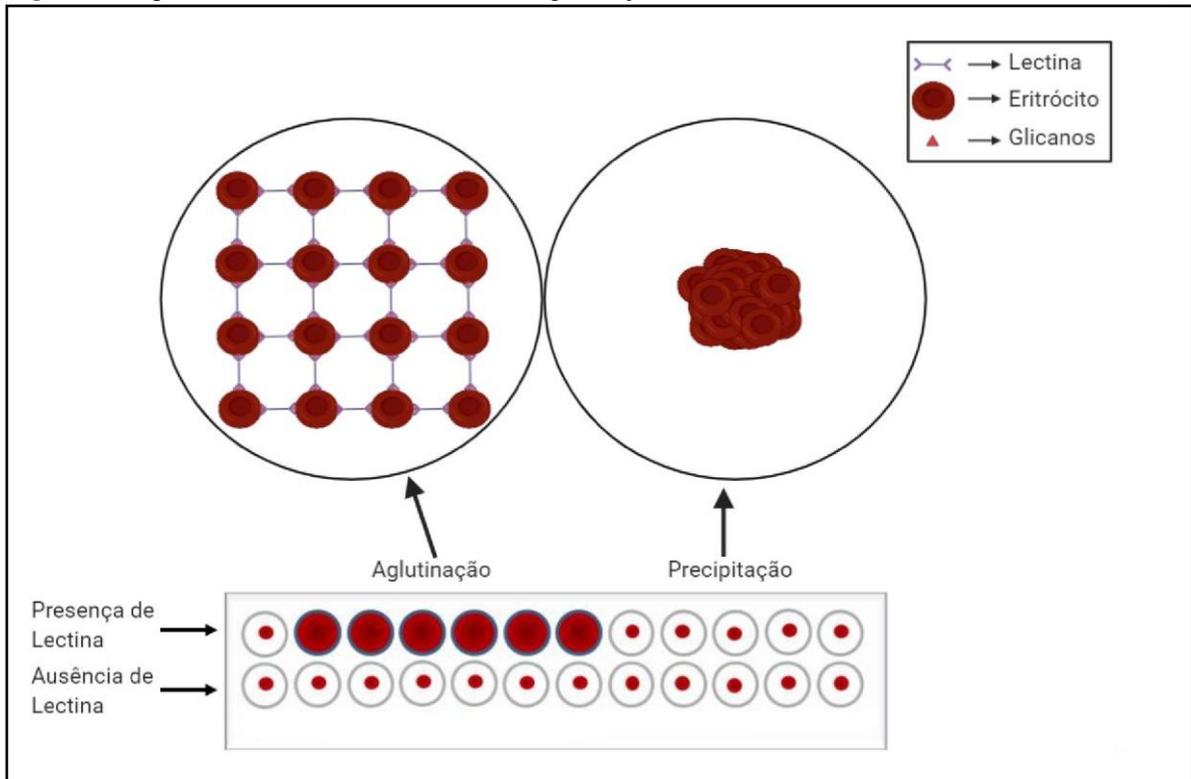
## 2.5 *Screen* Fitoquímico

É uma técnica rápida realizada através de coloração ou precipitação que revela a existência ou a inexistência de metabólitos secundários em um extrato (HARTMANN, 2015).

## 2.6 Teste Hemaglutinante

É realizado através de uma diluição seriada da amostra e posterior incubação com eritrócitos; a rede formada entre os eritrócitos constitui o fenômeno de hemaglutinação. Se a amostra for um extrato, nele pode haver além do composto de interesse metabólitos secundários, que por sua vez podem interferir na hemaglutinação dos eritrócitos durante testes de atividade hemaglutinante.

**Figura 5-** Esquema Ilustrativo de Ensaio de Hemaglutinação



**Fonte:** SILVA, 2020

Partindo disso se fez interessante investigar mais a fundo as espécies da família *Chrysobalanaceae*, tendo como foco neste trabalho a espécie *Licania tomentosa*, utilizando as três partes constituintes do fruto: casca, polpa e semente, preparando extratos destas partes individualmente.

### **3.0 - OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Investigar a composição fitoquímica e identificar a presença de lectina no fruto e semente da espécie *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch.

#### **3.2 Específicos:**

- Preparar extratos aquosos do fruto (casca e polpa) e semente de oiti;
- Identificar qual parte do fruto (casca ou polpa) tem uma melhor ação hemaglutinante específica frente aos eritrócitos de coelho;
- Identificar as principais classes de metabólitos secundários presentes nos extratos do fruto;
- Realizar a pré-purificação da lectina através de fracionamento proteico do extrato obtido.

## **4.0 - MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Coleta e Identificação do Material Biológico**

As amostras do fruto Oiti para análise foram adquiridas na Universidade Federal de Alagoas, localizada em área urbana, na cidade de Maceió – AL.

Para realização deste trabalho, os frutos de *Licania tomentosa* (Benth). (Família: Chrysobalanaceae) foram coletados de diferentes espécimes encontrados em Maceió, Alagoas, armazenados em sacos plásticos transparentes e conduzidos até o laboratório de Metabolismo e Proteômica (LAMP) onde foram higienizados, separados e armazenados. O resultante dos tecidos separados e o pó da semente foi acondicionado no freezer a - 20°C.

### **4.2 Preparo do Extrato Vegetal**

Para a preparação dos extratos brutos, o fruto foi separado em casca (4g, seca a temperatura ambiente 25°C), polpa (4g que foi mantida em refrigeração a 4°C) e semente (4g, que foi seca em estufa a 35°C por 24h e triturada até virar pó). Cada tecido foi misturado com o tampão Tris HCl 50mM pH 8.0 (20 mL) e colocado sob agitação por 16h a 4 °C. Após esse período o extrato foi filtrado em papel de filtro e armazenado à 4°C.

### **4.3 Fracionamento com Sulfato de Amônio**

Os extratos brutos da casca, polpa e semente foram fracionados com sulfato de amônio nas faixas de concentração de 0-20, 20-40, 40-60, 60-80%. Logo após a adição de sal (sulfato de amônio), as amostras permaneceram em repouso por 1 hora, e em seguida foram centrifugadas a 10.000 xg por 15 minutos a 4°C. Os precipitados obtidos de cada fracionamento foram ressuspensos em tampão Tris HCl 50mM pH 8.

### **4.4 Dosagem de Proteína**

A concentração de proteínas do extrato foi determinada através do método de Bradford (1976) utilizando albumina sérica bovina como padrão. Foi utilizado 10µl da amostra, em seguida adicionado 790µl de água e 20µl de Bradford, em seguida as amostras foram incubadas por 5 minutos. A leitura foi realizada a absorvância de 595 nm.

#### 4.5 Ensaio de Hemaglutinação

A atividade hemaglutinante (AH) do extrato e da fração foi determinada de acordo com o método descrito por Paiva e Coelho (1992). Foi realizada diluições seriadas com a amostra (50µl) em NaCl 0,15M em placas de ELISA com fundo em V. Em seguida, foram adicionados 50µl de eritrócitos de coelho tratado com glutaraldeído (Bing, et al. 1967). A atividade hemaglutinante é determinada como o inverso da maior diluição da amostra que é capaz de manter a rede de hemaglutinação. A atividade hemaglutinante específica foi definida como a relação entre o título da AH e a concentração de proteínas (mg ml<sup>-1</sup>).

#### 4.6 Análise Fitoquímica

Para identificar os principais compostos do extrato aquoso das partes do fruto oiti da espécie de *Licania T. Benth* foi realizada análise fitoquímica utilizando a análise qualitativa descrita por Matos (1988).

Com base na metodologia adotada foi possível realizar a prospecção de compostos fenólicos, taninos, antocianinas e antocianidinas, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, leconantocianidinas, catequinas, flavononas, esteroides, triterpenoides e saponinas. As reações qualitativas são avaliadas por meio da mudança de coloração decorrente da presença ou ausência dos compostos supracitados.

As análises foram realizadas no Laboratório de Ensino de Química da Universidade Estadual de Alagoas, sob orientação da Profa. Dra. Aldenir Feitosa dos Santos.

##### 4.6.1 Testes Para Fenóis, Taninos Pirogálicos e Taninos Flobatênicos

No tubo de ensaio adicionou-se três gotas de solução alcoólica de cloreto férrico (FeCl<sub>3</sub>), após agitação se observa a ocorrência de alteração colorimétrica ou formação de precipitado abundante escuro. A coloração entre o azul e o vermelho é indicativa de fenóis, precipitado escuro de tonalidade azul é indicativo da presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde da presença de taninos flobatênicos (taninos condensados ou catéquicos). Para comparação foi realizado teste em branco utilizando apenas água e o cloreto férrico.

#### **4.6.2 Testes Para Antocianina e Antocianidina, Flavonas, Flavonois e Xantonas, Chalconas e Auronas, Flavononóis**

Para estas análises foram adicionados compostos ácidos ou básicos a fim de se observar por meio da alteração de cor a presença ou ausência dos referidos compostos. Para tal, foi adicionado ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH) para a obtenção da solução em pH pré-determinado. A variação de cor indicou a presença ou ausência dos compostos.

#### **4.6.3 Teste Para Leucoantonocianidinas, Catequinas e Flavanonas**

Foram preparadas duas soluções, uma ajustada a pH 2 com adição de HCl (0,1M) e a outra foi alcalinizada a pH 11 pela adição de NaOH (0,1M). Ambas, foram aquecidas com o auxílio de uma lamparina de álcool durante 3 minutos, onde posteriormente foi observada a variação de cor, indicativa da presença ou ausência dos compostos secundários.

#### **4.6.4 Testes Para Flavonóis, Flavanonas, Flavononóis e Xantonas**

Foi adicionado uma fita de magnésio e 1,0 mL de HCl concentrado. Após o término da reação, indicada pela efervescência, esta alíquota foi comparada com a alíquota acidulada do teste anterior (4.4.3). O surgimento ou a intensificação de cor vermelha indica a presença de flavonóis, flavanonas, flavononóis e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

#### **4.6.5 Teste Para Esteroides e Triterpenoides**

O resíduo seco do béquer foi ressuspendido em 2,0 mL de clorofórmio e homogeneizado. A solução foi filtrada e adicionado 1ml de sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), para um tubo de ensaio. Foi adicionado 1,0 mL de anidro acético, em seguida agitado suavemente e adicionadas 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Agitado novamente e observada a projeção de cores indicando: coloração azul evanescente seguida de verde permanente é indicativa da presença de esteroides livres. A coloração parda até vermelha indica triterpenoides pentacíclicos livres.

#### **4.6.6 Teste Para Saponinas**

O resíduo insolúvel em clorofórmio, separado no procedimento anterior (2.3.5), foi ressuspendidos em 8,0 mL de água destilada e a solução filtrada para um tubo de ensaio. Agitou-

se o tubo com a solução por 3 minutos e observou-se a formação de espuma, a qual se for persistente e abundante (colarinho) é indicativa da presença de saponinas (heterosídeos saponínicos). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## 5.0 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Fracionamento Com Sulfato de Amônio e Teste Hemaglutinante

Após 16hrs de extração e etapas de fracionamento proteico em sulfato de amônio, foram obtidos 3 (três) extratos e 4 (quatro) frações para cada extrato, as quais foram submetidas ao teste de hemaglutinação, onde obteve-se os seguintes resultados expressos na tabela 2.

**Tabela 3. Potencial Hemaglutinante das Frações dos Extratos Brutos das Partes do Fruto Oiti.**

	<b>Extrato Bruto</b>	<b>Fração 0-20%</b>	<b>Fração 20-40%</b>	<b>Fração 40-60%</b>	<b>Fração 60-80%</b>
<b>Casca</b>	128	128	32	16	4
<b>Polpa</b>	32	16	8	2	2
<b>Semente</b>	1024	1024	1024	1024	512

Através dos dados obtidos podemos notar que o extrato bruto da semente teve uma maior atividade hemaglutinante frente aos demais extratos. Tendo em vista que sementes são tecidos que tendem a serem ricos em lectinas, a semente do oiti tem um grande potencial em possuir lectina com maior quantidade. A partir de sementes de *Moringa oleifera* foi isolada uma lectina com ação coagulante, que ao testada em soluções aquosas foi capaz de reduzir a concentração de íons metálicos, sendo uma possível substituta dos coagulantes no sistema de tratamento de água (FREITAS, et al.2016).

Considerando que a flora brasileira é uma grande reserva de plantas medicinais com atividade biológica, comumente utilizadas pelas populações nativas como infusões ou decocções, processos que envolvem aquecimento, e considerando que a resistência à temperatura é fator importante na avaliação de potenciais aplicações biotecnológicas (MIRANDA, et al. 2002.), foram feitos ensaios de aquecimento com o extrato bruto da semente para averiguar possíveis alterações nessa atividade (Tabela 3).

A atividade hemaglutinante do extrato não sofreu alterações frente a variações de temperatura até 80°C, mostrando que a possível lectina não sofreu desnaturação até essa temperatura. Adicionalmente, o extrato foi ativo em temperatura encontrada no corpo humano (37 ° C), estimulando estudos futuros para avaliar seu uso potencial para o tratamento de doenças infecciosas humanas bem como o isolamento da lectina.

De Souza et al. (2015) avaliou a atividade e antibacteriana da lectina de sementes de *Apuleia leiocarpa*. A atividade hemaglutinante da lectina continuou presente mesmo após aquecimento a 100 ° C. Além disso a lectina demonstrou efeitos bacteriostáticos e bactericidas em espécies gram-positivas e gram-negativas, sendo mais eficaz contra três variedades de *Xanthomonas campestris*. Lectinas também podem ser sensíveis à elevadas temperaturas. Em um estudo, duas lectinas isoladas de sementes de *Araucaria brasiliensis* tiveram sua atividade suprimida em 80 °C, mostrando menor resistência térmica do que o extrato aquoso da semente do fruto oiti.

**Tabela 4. Atividade hemaglutinante do extrato bruto da semente do fruto, em diferentes temperaturas.**

Temperatura (°C)	Atividade Hemaglutinante
30	1024
50	1024
80	1024
100	128

#### **Dosagem Proteica**

Frente aos dados já obtidos pelo teste hemaglutinante, se fez interessante quantificar a proteína presente nos extratos brutos das partes do fruto, onde foi utilizada a curva  $0,974x = y - 0,0783$ , onde x é a concentração de proteína e y a absorbância. Novamente foi possível perceber uma maior quantidade de proteína no extrato de sementes, em comparação com os demais (Tabela 4). Sementes são ricas em diversos tipos de proteínas, tais como enzimas, proteínas estruturais e de armazenamento (EDELMAN & COLT, 2016).

**Tabela 5. Quantificação Proteica dos Extratos Brutos.**

	y EB	Proteína (mg/ml)
Casca	0,094	0,0161
Polpa	0,240	0,1660
Semente	0,295	0,2224

**Screen Fitoquímico dos Extratos**

Na tabela 5, são apresentados os resultados obtidos apontando a presença ou ausência de compostos aleloquímicos nos extratos brutos aquosos dos tecidos do fruto e semente de oiti.

**Tabela 6. Screen Fitoquímico das Classes de Metabólitos Secundários em Extratos Etanólicos da Casca, Polpa e Semente do Fruto Oiti.**

Classes de Aleloquímico	Casca	Polpa	Semente
Fenóis	Ausente	Ausente	Ausente
Taninos pirogálicos	Ausente	Ausente	Presente
Taninos flobafênicos	Presente	Presente	Ausente
Antocianina e antocianidina	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Flavonas e xantonas	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Chalconas e auronas	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Flavononóis	Ausente	Ausente	Ausente
Leucoantocianidinas	Ausente	Ausente	Presente
Catequinas	Ausente	Ausente	Ausente
Flavononas	Presente	Presente	Ausente

Esteróides	Presente	Ausente	Ausente
Triterpenóides	Ausente	Ausente	Presente
Saponinas	Presente	Ausente	Presente
Flavonóides	Ausente	Ausente	Presente

Os resultados obtidos com o *screen* indicam a presença de taninos pirogálicos, leucoantocianidinas, triterpenos e flavonóides apenas no extrato da semente, taninos flobafênicos e flavononas se apresentaram nos extratos da casca e da polpa, e a classe de saponinas se fez presente nos extratos da casca e da semente. Portanto, as sementes além de mostrarem maior conteúdo proteico e maior atividade hemaglutinante, apresentaram também maior diversidade de metabólitos secundários.

Em um ensaio feito por Medeiros, et al. (2020), o fruto oiti se mostrou ser excelente fonte de fibra (25,62% -41,70%), de minerais e vitaminas. E o extrato bruto etanólico não apresentou lectinas ou inibidores de protease (quimotrisina e tripsina), mais 12 compostos polifenóis foram identificados nos extratos das sementes com predomínio de flavonóides, classe também detectada no presente trabalho. Os 12 compostos polifenóis identificados foram flavonóides (isômero de dímero de galocatequina, galocatequina e quercetina pentosil-hexosídeo), ácidos fenólicos (ácido cumárico e ácido ferúlico), glicosídeo (ácido hidroxijasmônico-O-hexosídeo e hidroxidi-hidroxiglucosídeo), lignano (hexosídeo de lariciresinol), diterpeno (tinospinosídeo D isômero) e ácido orgânico (ácido naftalenodicarboxílico-hexose).

Segundo Teixeira et al (2019), após análise fitoquímica a capacidade antioxidante não foi correlacionada com o conteúdo fenólico total da casca e da polpa do oiti. Nesse estudo, os frutos foram separados em casca, polpa e semente. Amostras foram secas a 40°C e usadas para a análise de fenólicos totais, quantificação de flavonóides e ensaios antioxidantes. Foram preparados extratos etanólico e hidroetanólicos dos tecidos, após análise concluiu-se proporção total de conteúdo fenólico expõe que os flavonóides representam 55% e 41% dos compostos fenólicos totais na casca e na polpa, respectivamente. Ácido gálico, catequina, rutina e kaempferol foram quantificados na casca da fruta, ácido gálico e kaempferol na polpa, sendo os flavonóis os principais flavonóides. Além dos flavonóides, outros compostos também conhecidos como polifenóis ou compostos fenólicos, como proantocianidinas, elagitaninos,

saponinas e terpenos, compostos previamente descritos por outros estudos foram encontrados no extrato da semente (TEIXEIRA, et al. 2019).

Em nenhum dos estudos citados foi utilizado um extrato aquoso dos tecidos e da semente do fruto oiti. Proteínas como lectinas são melhor extraídas em extratos aquosos, como o que foi utilizado no presente trabalho. Sendo assim, é possível que exista lectina nos tecidos, levando em consideração os resultados obtidos. A confirmação da presença de lectina ocorrerá através de ensaio de inibição da atividade hemaglutinante com carboidratos livres, uma vez que o ensaio de hemaglutinação pode apresentar falso positivo devido às interações não-específicas de metabólitos secundários com eritrócitos (COSTA et al., 2018).

Alguns dos metabólitos secundários de origem vegetal possuem diversas aplicações biotecnológicas. As saponinas são potentes no controle de insetos, direcionada a inibir o crescimento e desenvolvimento. Tian, et al. (2020) descreveu a utilização das saponinas isoladas do extrato *n*- BuOH de *Clematis aethusifolia*, na inibição do crescimento da praga *Plutella xylostella*, conhecida como traça-das-crucíferas, onde teve atividade anti-alimentar nos insetos.

Castro Vazquez, et al. (2016), descreveu o comportamento de flavonóides bioativos, como antioxidantes e seus efeitos citoprotetores de cascas de toranja secas (*Citrus paradisi* Macf.). Esses compostos bioativos estão fortemente associados a propriedades terapêuticas, incluindo efeitos antialergênicos, antiaterogênicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, anticarcinogênicos, antitrombóticos, cardioprotetores e vasodilatadores. Grande parte dessas atividades farmacológicas de polifenóis cítricos são uma consequência de sua capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS). Os flavonóides cítricos estão envolvidos na modulação das atividades neuronais e da saúde mental, onde possuem ação neuroprotetora.

Os taninos são importantes compostos bioativos usados como agentes anti-inflamatórios e possuem potencial cicatrizante. Ambreen e Mirza (2020) utilizaram taninos condensados de culturas de calos de folha de *Achyranthes aspera* L., como um creme, que demonstrou uma melhor atividade anti-inflamatória, em comparação com o creme do extrato da *Ocimum basilicum* L., que se portou melhor na ação cicatrizante de feridas.

Em resumo, os estudos com metabólitos secundários estão crescendo, tendo em vista suas diversas atividades biológicas. Apresentam atividades antimicrobiana, antifúngica, anti-câncer, antiviral, antioxidante e anti-inflamatória (SIMÕES, 2010; COMPEAN, 2014). E devido a isso se tornaram de grande importância a busca por um conhecimento mais abrangente

sobre esses compostos, onde entender seus mecanismos de ação pode acarretar inúmeras possibilidades de estudos que se foquem na busca por soluções para importantes problemas que vão da resistência microbiana às drogas sintéticas ao uso desordenado de pesticida que afetam os organismos. Um leque de possibilidades se abre em relação á perspectivas de aplicações da possível lectina presente no oiti, e de seus metabólitos secundários, sendo assim, este trabalho é apenas o ponta pé inicial para outras demais pesquisas com o fruto oiti.

## 6 CONCLUSÃO

Pode-se afirmar que:

- Todos os tecidos avaliados mostraram a presença de atividade hemaglutinante e conteúdo proteico, destacando-se a semente do oiti;
- A atividade hemaglutinante de sementes de oiti mostrou-se resistente ao aquecimento de até 80°C, que as tornam um interessante objeto de estudo para pesquisas relacionadas a lectinas;
- O fruto e semente do oiti possui uma grande variedade de compostos secundários com diversos potenciais biotecnológicos, tais como os taninos, flavonoides e saponinas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, A. D. **Pharmacological activities of flavonoids: a review**. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology, 2011. 4: BHATTACHARJEE, C. **Isolation and structural elucidation of flavonoids from aquatic fern *Azolla microphylla* and evaluation of free radical scavenging activity**. Int. J. Pharm. Pharm. Sci., 2013. 5(3): 743-749.

AMBREEN, Madieha; MIRZA, Safdar Ali. Evaluation of anti-inflammatory and wound healing potential of tannins isolated from leaf callus cultures of *Achyranthes aspera* and *Ocimum basilicum*. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 33, 2020.

BABY, Sabulal; JOHNSON, Anil John; GOVINDAN, Balaji. Secondary metabolites from *Ganoderma*. **Phytochemistry**, v. 114, p. 66-101, 2015.

BEZERRA, J. N. S. **Estudo Fitoquímico de *Licania rígida* Benth (Chrysobalanaceae)**. 2011. 157 f. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

CAMACHO, Natália Neutzling. **Expressão heteróloga da lectina de *Bauhinia forficata* Link em *Escherichia coli* e efeito sobre linhagens celulares tumorais**. 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas.

CASTILHO, R.O., Kaplan, M.A.C., 2008. Constituintes químicos de *Licania tomentosa* Benth. (Chrysobalanaceae). *Quim. Nova* 31, pág. 66-69, 2008

CASTILHO, R.O.; ANDMARIA, A.C. Volatile components of oiti fruit (*Licania tomentosa* Benth.). *Records of Natural Products*, 4(4), 238-241, 2010.

CASTRO-VAZQUEZ, Lucia et al. Bioactive flavonoids, antioxidant behaviour, and cytoprotective effects of dried grapefruit peels (*Citrus paradisi* Macf.). **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

CHAFFAUD M, Emberger L. 1960. *Traité de Botanique Systematique Vol. II* Paris: Masson, p. 1338-1340.

CHAVERRI, Jose Pedraza et al. **Medicinal properties of mangosteen** (*Garcinia mangostana*). 2019.

COELHO-FERREIRA, M 2009. **Conhecimento medicinal e utilização de plantas em uma comunidade costeira amazônica de Marudá**, Pará (Brasil). *J. Ethnopharmacol* 126 : 159-175.

COSTA, Ricardo Bezerra. **Purificação, caracterização e avaliação de atividade antifúngica e citotóxica da lectina de casca de *Genipa americana*** (Jenipapo). 2018.

DA SILVA, Pollyanna Michelle et al. *Punica granatum* sarcotesta lectin (PgTeL) has antibacterial activity and synergistic effects with antibiotics against  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*. **International journal of biological macromolecules**, v. 135, p. 931-939, 2019.

DE MEDEIROS, Jackeline Lima et al. Chemical composition, nutritional properties, and antioxidant activity of *Licania tomentosa* (Benth.) fruit. **Food Chemistry**, v. 313, p. 126117, 2020.

DENARDIN, Cristiane C. et al. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. **Journal of food and drug analysis**, v. 23, n. 3, p. 387-398, 2015.

DEWICK, Paul M. The mevalonate and methylerythritol phosphate pathways: terpenoids and steroids. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**, v. 3, 2009.

DIAS, Anne Shyrley Ferreira. **Lectina da esponja marinha *Tedania ignis***: purificação, caracterização e interação com leishmanias. 2006. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

DÔRES, R. G. R. **Análise morfológica e fitoquímica da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.)**. 2007. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, MG.

EDELMAN, Marvin; COLT, Monica. Nutrient value of leaf vs. seed. *Frontiers in chemistry*, v. 4, p. 32, 2016

FEITOSA, E.A., Xavier, H.S., Randau, K.P. Chrysobalanaceae: traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Rev. Bras. Farmacogn.* 22, pág. 1181-1186, 2012.

FERNANDES J, Castilho RO, Costa MR, Wagner-Souza K, Kaplan MAC, Gattass CR 2003. Triterpenos pentacíclicos de espécies de Chrysobalanaceae: citotoxicidade em linhas celulares de leucemia multirresistente e sensível. *Cancer Lett* 190 : 165-169.

Figura 02 <https://appverde.wordpress.com/2015/09/17/oiti-licania-tomentosa/>, , acesso em 03/02/2020

Figura 03 <http://www.aplantadavez.com.br/2015/01/oiti-licania-tomentosa-benth-fritsch.html>, acesso em 03/02/2020.

FLAMBÓ, Diana Filipa Afonso Lopes Peres. **Atividades biológicas dos flavonoides: Atividade antimicrobiana**. 2013. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto.

FREIRE, José EC et al. Mo-CBP3, an antifungal chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds, is a member of the 2S albumin family. *PLoS One*, v. 10, n. 3, 2015.

FREITAS, José Henrique Edmilson Souza et al. Evaluation of using aluminum sulfate and water-soluble *Moringa oleifera* seed lectin to reduce turbidity and toxicity of polluted stream water. **Chemosphere**, v. 163, p. 133-141, 2016.

GABOR, F. et al. The lectin-cell interaction and its implications to intestinal lectin-mediated drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* v. 56, n.4, p. 459-480, 2004.

GODULA, Kamil. Following sugar patterns in search of galectin function. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 115, n. 11, p. 2548-2550, 2018.

GRANGEIRO, T.B.; SCHRIEFER, A.; CALVETE, J.J.; RAIDIA, M.; URBANKE, C.; BARRAL-NETTO, M.; CAVADA, B.S. Molecular cloning and characterization of ConBr, the lectin of *Canavalia brasiliensis* seeds. Eur J Biochem., v. 248, p.43-48, 1997.

ITAKURA, Yoko et al. Sugar-binding profiles of chitin-binding lectins from the hevein family: A comprehensive study. International journal of molecular sciences, v. 18, n. 6, p. 1160, 2017.

JOHN, Fatima Clement; TABBASUM, Khatija; RAO, Chebrolu P. Chemico- biological aspects of plant lectins with a preference to legume lectins. In: Studies in Natural Products Chemistry. Elsevier, 2013. p. 359-381.

JOLY, AB 1998. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. Brasil: IBEP  
KARNCHANATAT, Aphichart. Antimicrobial activity of lectins from plants. Antimicrobial agents. InTech, p. 145-178, 2012.

KENNEDY, J.F., PAIVA, P, M, G., CORREIA, M.T.S. CAVALCANTI, M.S.M., COELHO, L.C.B.B. Lectins, versatile proteins of recognition: a review. Carbohydrate Polymers, n. 26, p. 219-230, 1995.

LIMA, Janaína Kívia Alves. **Atividade inseticida e mecanismo de ação de cascas de *Genipa americana* L. contra *Tribolium castaneum* (Herbst)**. 2020. 122 f. Tese (Doutorado) - Aluno, Maceió-AL, 2020.

LIS, Halina; SHARON, Nathan. Lectins: carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. Chemical reviews, v. 98, n. 2, p. 637-674, 1998.

MACHADO, Hussen et al. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n. 1/2, 2008.

MENEGUELLI, A. Z.; et al. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos na saúde pública brasileira. **Revista Enfermagem e Saúde Coletiva**, v. 1, n. 1, p. 2-12, 2017.

MIRANDA, M. M. F. S. et al. Anti-herpes simplex virus effect of a seed extract from the tropical plant *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae). **Phytomedicine**, v. 9, n. 7, p. 641-645, 2002.

MIRANDA, MMFS, Gonçalves JLS, Romanos MTV, Silva FP, Pinto L, Silva MH, Ejzemberg R, Granja LFZ, Wigg MD 2002. Efeito do vírus anti-herpes simplex de um extrato de sementes da planta tropical *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae). *Phytomedicine* 9 : 641-645.

MORAIS, Leandro Vinícius Fernandes de. Atividade antimicrobiana e antioxidante de *Licania rigida* e *Turnera ulmifolia*. 2015. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

NDIAYE M, Diatta W, Sy AN, Dièye AM, Faye B, Bassène E 2008. Propriedades antidiabéticas do extrato aquoso de cascas de *Parinari excelsa* em ratos diabéticos induzidos por aloxana. *Fitoterapia* 79 : 267-270.

NELSON, David L.; COX, Michel M. Princípios de bioquímica de Lehninger. In: Princípios de Bioquímica de Lehninger. Artmed, 2015.

PAIVA, P.M.G. et al. Protease inhibitors from plants: Biotechnological insights with emphasis on their effects on microbial pathogens. In: MÉNDEZ-VILLAS, A. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Badajoz: Formatex Research Center, 2013.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/Universidade de São Paulo, 2004. p. 1-10.

PEUMANS, Willy J.; VAN DAMME, E. J. Lectins as plant defense proteins. *Plant physiology*, v. 109, n. 2, p. 347, 1995.

PROCÓPIO, Tamara F. et al. Antibacterial lectins: action mechanisms, defensive roles and biotechnological potential. *Antibacterials: Synthesis, Properties and Biological Activities*, Nova Science Publishers Inc., New York, p. 69-89, 2017.

SANTIN, Rodrigo; LAJUS, Cristiano Reschke; KLEIN, Claudia. Potencial alelopático de diferentes extratos de aveia, azevém, nabo e consórcio no crescimento inicial do milho em laboratório e a campo. **Seminário de Iniciação Científica, Seminário Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão e Mostra Universitária**, 2017.

SHARON, Nathan; LIS, Halina. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology*, v. 14, n. 11, p. 53R-62R, 2004.

SHARON, Nathan; LIS, Halina. Legume lectins--a large family of homologous proteins. *The FASEB Journal*, v. 4, n. 14, p. 3198-3208, 1990.

SHIVAMADHU, Madhu Chakkere et al. Anti-cancer and anti-angiogenic effects of partially purified lectin from *Praecitrullus fistulosus* fruit on in vitro and in vivo model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1299-1309, 2017.

SILVA, Gabriel Araújo da. Avaliação de atividades farmacológicas e toxicidade de plantas medicinais do semiárido do Nordeste brasileiro /Gabriel Araújo da Silva. – Natal, 2016.

SILVA, José Dayvid Ferreira Da. **Atividades Biológicas de moléculas de *Portulaca elatior***. 2020. 171 f. Tese (Doutorado) - Aluno, [S. l. ], 2020.

SILVA, Maria Cristina et al. Extração da lectina da folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e o efeito de cátions divalentes na atividade hemaglutinante. *Food Science and Technology*, v. 30, p. 103-107, 2010.

SILVA, Pollyanna M. et al. The juicy sarcotesta of *Punica granatum* contains a lectin that affects growth, survival as well as adherence and invasive capacities of human pathogenic bacteria. **Journal of functional foods**, v. 27, p. 695-702, 2016.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001.

SOUZA, G.S.; SILVA, M.C.S.; ANDRADE, K.M.N.S.S.; MISKINIS, R. de A.S.; SOARES, F.de O.; AZEVEDO, L.C. Determinação físico-química do oiti.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TEIXEIRA, L. L. et al. Physicochemical characterization and phenolic profile of oiti fruits (*Licania tomentosa* Benth Frisch). **J Nutr Food Technol**, v. 2, n. 1, p. 7-12, 2019.

TIAN, Xiaolin et al. The antifeedant, insecticidal and insect growth inhibitory activities of triterpenoid saponins from *Clematis aethusifolia* Turcz against *Plutella xylostella* (L.). **Pest Management Science**, 2020.

TORRES-RÊGO, Manoela et al. Anti-inflammatory activity of aqueous extract and bioactive compounds identified from the fruits of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae). **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 275, 2016.

VAN PARIJS, J., Broekaert, WF, Goldstein, IJ *et al.* Hevein: uma proteína antifúngica do látex da seringueira (*Hevea brasiliensis*). *Planta* 183, 258–264 (1991).

VARROT, Annabelle; BLANCHARD, Bertrand; IMBERTY, Anne. Lectin binding and its structural basis. *Carbohydr. Recogn*, p. 329-347, 2011.

XIE, Yixi et al. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 132-149, 2015.